Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. O. Hornstein

Proliferationskinetische Untersuchungen am Samenblasenepithel der kastrierten Ratte nach Gabe von Testosteronpropionat. *

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

1974

vorgelegt
von

Norbert Heyder
aus
Wirsberg (Bayern)

Mit dankenswerter Unterstützung durch die
Deutsche Forschungsgemeinschaft

D 29

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. L. Demling

Referent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 26. August 1974

Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 15, 65—74 (1973)
© by Springer-Verlag 1973

Proliferationskinetische Untersuchungen über den Einfluß von Testosteronpropionat auf das Samenblasenepithel der kastrierten Ratte*

G. H. Schmid, H. Schell und N. Heyder

Dermatologische Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. med. Otto P. Hornstein)

Eingegangen am 15. September 1973

The Influence of Testerone-propionate on the Proliferation of the Seminal Vesicles Epithelium in Castrated Rats

Summary. As a model of hormonally induced regeneration we studied the proliferation of seminal vesicles in castrated rats under the influence of testosterone-propionate (TP). By autoradiography with ^{3}H-thymidine it was shown that the hormonally induced proliferation starts 12–24 hours after the application of TP and rises to maximal values (= maximal ^{3}H-index) after 48 hours. The duration of the pre-replicative phase seems to be nearly independent of the dosage applicated whilst the rate as well as the duration of the hormonally induced proliferation depends on the dosage of TP and the modality of application (single or daily injection). After a maximum of 48 hours, the ^{3}H-index decreases, even if a daily TP-application is continued. By examination of the mean grain density of the labelled nuclei is was shown that the doubling-time of the DNA (= S-phase) in the epithelium of the seminal vesicles in intact animals is as long as in castrated, TP-stimulated animals. During the hormonally induced regeneration of the epithelium, its secretory activity is very low. Apparently normal secretion starts after complete regeneration only.

Morphologie, Proliferation und Funktion des Samenblasenepithels der erwachsenen Ratte sind in hohem Maße vom Androgenspiegel abhängig (Burkhardt, 1942; Cavazos und Melampy, 1954; Allen, 1958; Grunt und Walker, 1958; Wicks und Villee, 1964; Tuohimaa und Niemi, 1968; Schmid *et al.*, 1971; Morley und Wright, 1972). Nach operativer Kastration kommt es zu ausgeprägten Rückbildungsvorgängen, die durch Androgensubstitution zum großen Teil reversibel sind.

Um die Wirkung von Hormonen auf die Zellteilung im Samenblasenepithel zu untersuchen, prüften wir autoradiographisch die DNS-Synthese bei kastrierten erwachsenen Ratten unter dem Einfluß von Testosteronpropionat (TP). Bei diesem hormonbedingten Regenerationsmodell interessierte besonders der Zeitpunkt des ersten Wirksamwerdens sowie das Ausmaß und die Dauer des hormonellen Stimulus. Zusätzlich untersuchten wir, ob die Proliferationsantwort im Samenblasenepithel von der applizierten Dosis abhängt und ob die Dauer der DNS-Verdopplungsphase (=S-Phase) intakter Tiere und kastrierter hormonstimulierter Tiere verschieden lang ist.

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Material und Methode

Es wurden 36 männliche Sprague-Dawley-Ratten einer Zucht untersucht, die zu Versuchsbeginn 4 Monate alt waren und 350—450 g wogen. Die Eingewöhnungszeit betrug 30 Tage; die Tiere wurden zu zweit in einem Käfig gehalten, erhielten Altromin®-Mischfutter und Wasser ad libitum. Die Raumtemperatur betrug 21°C, es bestand ein 12stündiger Hell-Dunkel-Rhythmus. 2 Tiere dienten als intakte Kontrollen. 34 Ratten wurden in Nembutal®-Narkose operativ durch medianen Unterbauchschnitt kastriert, 2 dieser Tiere wurden als kastrierte Kontrollen verwandt und 28 Tage nach der Kastration getötet. 32 kastrierte Tiere erhielten — beginnend 28 Tage nach der Kastration — Testosteronpropionat[1] in folgender Weise:

12 Tieren wurde *eine einmalige Dosis von 1 mg TP* i.m. appliziert, ihre Tötung erfolgte paarweise nach 12, 24, 48, 72, 144 und 168 Std.

8 Tiere erhielten *in täglichem Abstand 1 mg TP* i.m. und wurden paarweise nach 48, 72, 120 und 168 Std getötet.

12 Tiere bekamen *eine einmalige Dosis von 10 mg TP* i.m. und wurden ebenfalls paarweise nach 12, 24, 48, 72, 144 und 168 Std getötet.

Alle Tiere erhielten 1 Std vor der Tötung zwischen 9 und 11 Uhr je 500 µC ^{3}H-Thymidin (spez. Akt. 6,0 C/mMol, Schwarz Bio Research, New York) i.p. verabreicht. Die Tötung erfolgte jeweils im Ätherrausch durch Decapitation. Unmittelbar danach wurden die Samenblasen entnommen, in Thymidin-Formalin fixiert und zur Paraffineinbettung aufgearbeitet. Es wurden 3 µ dicke Gewebsschnitte durch den proximalen Teil der Organe angefertigt, Autoradiogramme mit dem Stripping-Film AR 10 (Kodak) bei Expositionszeiten von 8 und 18 Tagen hergestellt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die Bestimmung des ^{3}H-Indexes (= Prozentsatz markierter Zellkerne) erfolgte durch Auszählung von mindestens 5000 Epithelzellen pro Tier, der ^{3}H-Index der Kontrolltiere durch Auszählung von je 10000 Zellkernen. Als markeirt wurde ein Zellkern angesehen, wenn er mindestens 4 Silberkörner über der Kernfläche aufwies.

Bei den intakten Kontrolltieren und bei 2 Untersuchungszeitpunkten (48 Std und 168 Std) täglich mit 1 mg TP behandelten kastrierten Ratten bestimmten wir die mittlere Silberkorndichte (SKD = Anzahl der Silberkörner über einer definierten Kernfläche), indem wir bei jedem Tier an 25 im epithelialen Band aufeinanderfolgenden markierten Zellkernen die Anzahl der Silberkörner über der Kernfläche zählten und die Fläche dieser Zellkerne aus Längs- und Querdurchmesser ermittelten; dabei wurden Autoradiogramme mit 8tägiger Expositionszeit bei 1250facher Vergrößerung ausgewertet.

Ergebnisse

Die Samenblasen der normalen erwachsenen Ratte sind groß und prall. Im histologischen Bild sind die Epithelzellen bandartig aneinandergereiht und haben ein relativ hohes Cytoplasma mit supranucleärer Aufhellung. Die Zellkerne liegen im basalen Zelldrittel, wirken blasig hell, mit körnigen Chromatinverdichtungen.

Im Vergleich zum Normaltier sind die Samenblasen 28 Tage nach operativer Kastration makroskopisch deutlich kleiner, in der Konsistenz vermindert, bei der Organentnahme entleert sich kein Sekret aus dem Drüsenlumen. Unter täglicher Gabe von TP erholen sich die rückgebildeten Samenblasen wieder, haben aber um den 7. Versuchstag noch nicht wieder die Größe der Konsistenz intakter Tiere erreicht.

Histologisch manifestiert sich die Rückbildung der Samenblase nach operativer Kastration durch ein Schrumpfen der Drüse, niedrige Epithelzellen mit niedrigem supranucleären Cytoplasma, chromatindichte, kleine Zellkerne, ein enges Aneinanderrücken der Epithelzellen und durch ein leeres Drüsenlumen. Die Erholungsvorgänge unter täglicher Applikation von TP werden bereits nach 48—72 Std sichtbar: nach 48 Std finden sich kleine Sekret-Mengen im Drüsenlumen, nach 72 Std wirken die Zellen wieder höher, die Zellkerne mehr blasig; am 7. Versuchstag erscheinen die Epithelien sogar höher als bei den intakten Kontrolltieren, der supranucleäre Cytoplasmabereich ist auffallend groß, hell und aufgelockert.

Die markierten Zellkerne sind im Samenblasenepithel unregelmäßig verteilt und kommen unregelmäßig gehäuft vor. Der ^{3}H-Index der nichtkastrierten

1 Testoviron® (Fa. Schering AG, Berlin).

Kontrolltiere beträgt 0,34%, der Wert der kastrierten Ratten 28 Tage nach operativer Kastration 0,08%.

Abb. 1a zeigt den zeitlichen Verlauf des ^{3}H-Indexes nach *einmaliger Gabe von 1 mg TP*. 12 Std nach der Applikation des Hormons gleicht der Wert noch dem der kastrierten Kontrolltiere, 24 Std nach der Applikation ist er deutlich angestiegen (0,21%) und bleibt bis zum 5. Versuchstag relativ hoch. Am 7. Versuchstag bewegt er sich wieder im Bereich der kastrierten Kontrolltiere. Bemerkenswert ist, daß der 24 Std-Wert eine große Streubreite aufweist und daß die Ergebniskurve über den gesamten Versuchszeitraum wellenförmig zu verlaufen scheint.

Der zeitliche Verlauf des ^{3}H-Indexes nach *einmaliger Applikation von 10 mg TP* ist in Abb. 1b dargestellt. Auch bei diesem Versuch liegt der 24 Std-Wert mit 0,72% über dem der kastrierten Kontrollen, das Maximum des Kurvenverlaufes bei 48 Std (29, 25%), und die 3-, 5- und 7 Tage-Werte sind demgegenüber erniedrigt. Auch diese Kurve scheint angedeutet wellenförmig mit Maxima am 2. und 5. Versuchstag zu verlaufen.

Den ^{3}H-Index bei *wiederholter, täglicher Applikation von 1 mg TP* zeigt Abb. 1c. Nach 24 Std liegt der Wert mit 0,21% wiederum über dem der kastrierten Kontrolltiere; nach 48 Std beträgt er 27,4%, was einem Anstieg um den Faktor 340 entspricht. Am 3. Versuchstag ist der ^{3}H-Index gegenüber den Kontrollen noch deutlich erhöht (9,9%), jedoch verglichen mit dem 48 Std-Wert abgesunken. Auch am 6. und 7. Versuchstag bewegt sich der Wert noch über dem der Kontrollen (4,9 bzw. 3,1%).

Die Bestimmung der mittleren Silberkornzahl (SK) über den markierten Zellkernen (= SK/Kern) und der mittleren Silberkorndichte (Silberkörner/Flächeneinheit = SKD) ergibt bei den Autoradiogrammen mit 8tägiger Expositionszeit folgende Werte:

	SK/Kern	SKD
Nichtkastrierte Kontrolltiere	33,22	0,736
Kastrierte Tiere nach tägl. TP-Applikation, 48 Std-Wert	25,80	0,664
Kastrierte Tiere nach tägl. TP-Applikation, 168 Std-Wert	27,06	0,648

Diskussion

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre zeigten, daß Hormone den Ablauf der Zellteilung beeinflussen können (Lit. s. Epifanova, 1971). Dies gilt im besonderen für die Steroidhormone und ihre Zielgewebe und damit für die Sexualhormone und die von ihnen gesteuerten Organe. Grundsätzlich gibt es dabei die Möglichkeit, daß der hormonelle Stimulus im Sinne einer Proliferationssteigerung wirksam wird, indem entweder die sich teilenden Zellen schneller den Generationscyclus durchlaufen, oder mehr Zellen in den Teilungscyclus eingeschleust werden, oder daß es gleichzeitig zu einer Verkürzung der Generationszeit und zu einer Vergrößerung der Wachstumsfraktion kommt. Andererseits können Hormonwirkungen auch zu einer Abnahme der Proliferation führen; in diesem Fall verlangsamt sich die Zellteilung, oder es werden mehr Zellen aus der Wachstumsfraktion ausgeschieden. Besonders gut untersucht ist der proliferationssteigernde

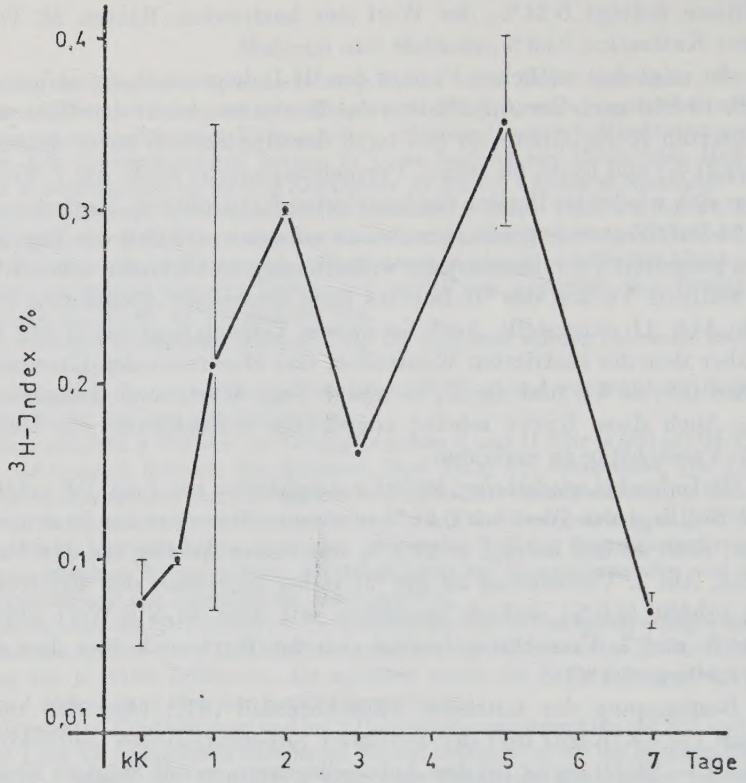

Abb. 1a

Abb. 1a—c. Der zeitliche Verlauf des ^{3}H-Indexes im Samenblasenepithel kastrierter Ratten nach Verabreichung von Testosteronpropionat (TP). *kK* = Kastrierte Kontrolltiere 28 Tage nach operativer Kastration = Beginn der Hormonapplikation. a Einmalige Gabe von 1 mg TP. b Einmalige Gabe von 10 mg TP. c Tägliche Gabe von 1 mg TP

Effekt der Östrogene auf das Uterusepithel, der cyclusspezifisch eine Verkürzung der Generationszeit und eine Vergrößerung der Wachstumsfraktion hervorruft (Epifanova, 1971). Das Progesteron wirkt antagonistisch: es senkt die Proliferationsrate dadurch, daß es vermehrt Zellen in die sekretorische Phase überleitet und somit aus der Wachstumsfraktion ausschleust (Lit. s. Epifanova, 1971).

Für das Samenblasenepithel der Ratte ist der proliferationssteigernde Effekt der Androgene bekannt. So kommt es z. B. nach operativer Kastration zu einem massiven Absinken der Zahl der sich teilenden Zellen, bei nachfolgender Testosteronsubstitution zu einem Proliferationsschub.

In den eigenen Untersuchungen prüften wir den Einfluß von Testosteronpropionat auf die Proliferation der Samenblase bei kastrierten, erwachsenen Ratten. Dabei lag der ^{3}H-Index 12 Std nach Applikation von Testosteronpropionat bei allen Versuchsanordnungen im Bereich der kastrierten Kontrolltiere, nach 24 Std deutlich höher.

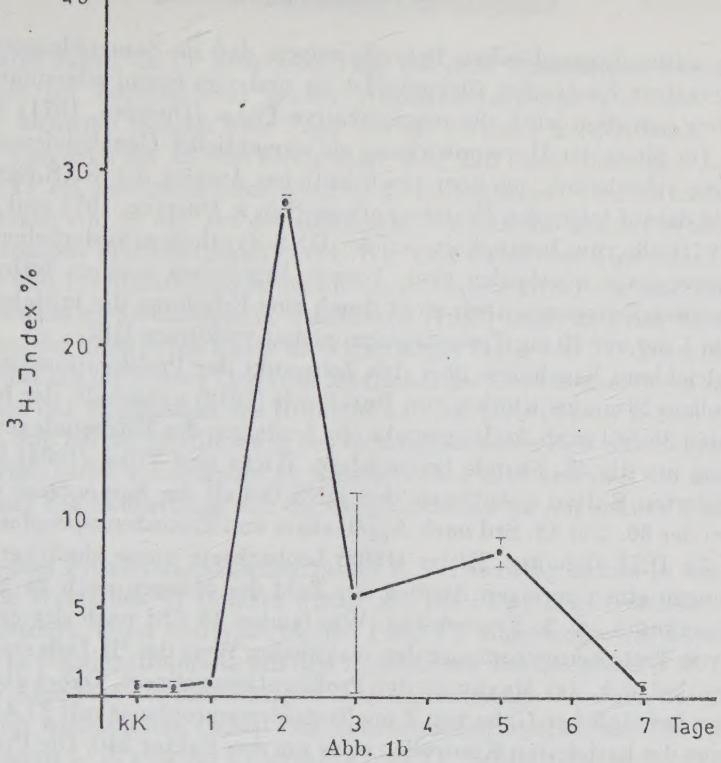
30
20
10
5
1
^{3}H-Index %
kK
1
2
3
4
5
6
7
Tage

Abb. 1b

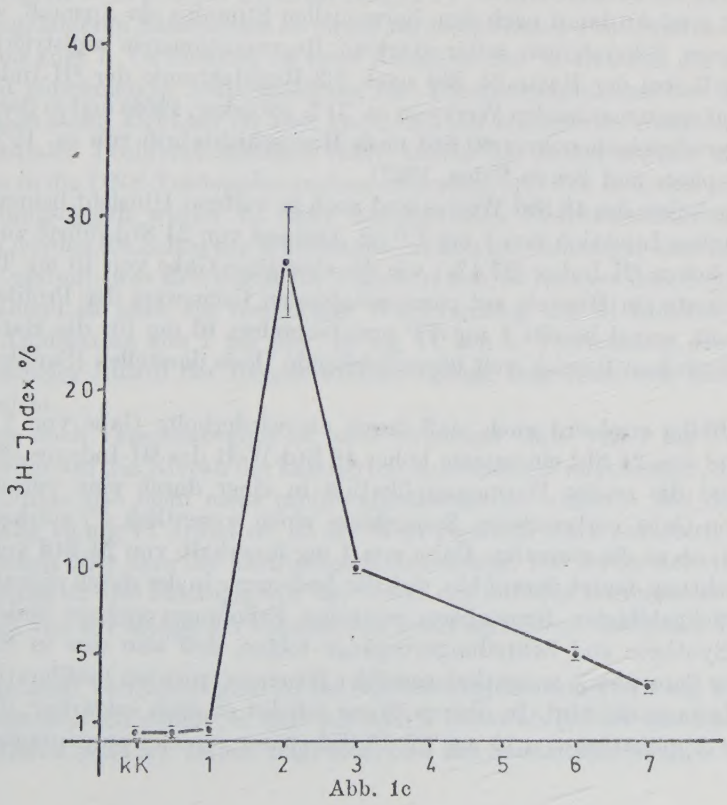
40
30
20
10
5
1
^{3}H-Index %
kK
1
2
3
4
5
6
7

Abb. 1c

Diese autoradiographischen Befunde zeigen, daß im Samenblasenepithel, das nach operativer Kastration rückgebildet ist und von einem adaequaten hormonellen Reiz getroffen wird, die präreplikative Phase (Duspiva, 1971) 12—24 Std lang ist. Im Sinne der Hormonwirkung als sequentieller Genaktivierung ist diese Zeitspanne erforderlich, bis über einen initialen Anstieg der RNS-Synthese und einer bald darauf folgenden Proteinsynthese (Lit. s. Duspiva, 1971 und bei Grundmann, 1971) alle zum Ingangkommen der DNS-Synthese erforderlichen cellulären Synthesevorgänge abgelaufen sind. Unsere Ergebnisse machen wahrscheinlich, daß sich diese Zeitspanne auch nicht durch eine Erhöhung der initialen Hormondosis von 1 mg auf 10 mg Testostreonpropionat verkürzen läßt.

Vergleichbare Ergebnisse über den Zeitpunkt der Proliferationsantwort nach hormonellem Stimulus wurden von Burkhardt (1942) mitgeteilt, der bei kastrierten Ratten 35 Std nach Androgengabe ein Ansteigen des Mitoseindexes mit einem Maximum um die 43. Stunde beobachtete. Wicks und Villee (1964) bestimmten bei kastrierten Ratten quantitativ den DNS-Gehalt der Samenblase und fanden zwischen der 36. und 48. Std nach Applikation von Testosteronpropionat eine Zunahme des DNS-Gehaltes. Ritter (1969) beobachtete unter ähnlichen Versuchsbedingungen einen geringen Anstieg der Zahl der Mitosen nach 24 Std und ein Mitosemaximum am 3. Versuchstag. Wie fanden 48 Std nach der ersten Applikation von Testosteronpropionat den maximalen Wert des ^{3}H-Indexes im Samenblasenepithel, d.h. das Maximum der Proliferationsantwort. Dabei übersteigt der ^{3}H-Index bei täglicher Gabe von 1 mg Testosteronpropionat mit 27,4% den Ausgangswert der kastrierten Kontrollen etwa um den Faktor 340. Die Proliferationsantwort erreicht damit nach dem hormonellen Stimulus ein Ausmaß, wie es auch in anderen Zellsystemen unter starkem Regenerationsreiz registriert wird. So steigt z.B. bei der Ratte 24 Std nach 2/3-Hepatektomie der ^{3}H-Index von ca. 0,1% auf einen maximalen Wert von ca. 31% (Stöcker, 1966) und in der Epidermis des Meerschweinchenohres 60 Std nach Hornschichtabriß von ca. 10% auf 70% (Christophers und Braun-Falco, 1967).

Die Ergebnisse des 48 Std-Wertes sind noch in weiterer Hinsicht bemerkenswert. Die 2malige Injektion von 1 mg TP im Abstand von 24 Std führte zu einem fast ebenso hohen ^{3}H-Index (27,4%) wie die einmalige Gabe von 10 mg TP (29,3%). Dies könnte ein Hinweis auf einen maximalen Grenzwert der Proliferationsantwort sein, zumal bereits 1 mg TP und besonders 10 mg für die Ratte eine den physiologischen Bereich weit überschreitende Dosis darstellen (Sandler und Hall, 1968).

Auffällig erscheint auch, daß durch die wiederholte Gabe von 1 mg TP im Abstand von 24 Std ein extrem hoher 48 Std-Wert des ^{3}H-Indexes erreicht wird, daß also die zweite Hormonapplikation in einer durch eine vorausgegangene Hormon-Gabe vorbereiteten Samenblase einen wesentlich (!) stärkeren Einfluß ausübt, als es die einmalige Gabe von 1 mg innerhalb von 24 Std vermag. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die Androgene in der durch operative Kastration rückgebildeten Samenblase zunächst Erholungsvorgänge einleiten, denen DNS-Synthese und Zellteilungsvorgänge folgen, daß also eine in Erholung begriffene Samenblase wesentlich sensibler für einen erneuten proliferationssteigernden Hormonreiz wird. In diesem Sinne scheint es auch erklärbar, daß eine einmalige Applikation von 10 mg TP 48 Std später zu einer ausgeprägten Prolifera-

tionsantwort führt, da TP über 3—5 Tage aus dem Muskeldepot freigesetzt wird und somit bei entsprechend großer Applikationsmenge wie eine Mehrfach-Injektion kleinerer Mengen über Tage verteilt wirksam werden kann.

Beim Vergleich der 48 Std-Werte zeigt sich, daß nach einmaliger Applikation von 1 mg TP ein wesentlich niedrigerer ^{3}H-Index registriert wird als nach einer einmaligen Gabe von 10 mg. Bei der einmaligen Applikation kommt es also zu einer dosisabhängigen Proliferationsantwort. Wie weit dabei eine Äquivalenz von Hormondosis und Proliferationsantwort im Samenblasenepithel der kastrierten Ratte besteht, wurde nicht untersucht. Junkmann (1952) fand, daß das Samenblasengewicht bei der kastrierten Ratte nach einmaliger Gabe von TP dosisabhängig zunahm, wobei mit steigender Dosis das Maximum des Gewichtsanstieges zunehmend später nach der Applikation des Hormons auftrat. Dabei bleibt jedoch zu berücksichtigen, daß bei der Bestimmung des Gesamtgewichtes Zell- *und* Sekretzunahme in der Drüse nicht voneinander zu unterscheiden sind und daß die anatomische Abtrennung der Samenblase von der Coagulationsdrüse nur schwer durchführbar ist.

Nach dem Proliferationsmaximum am 2. Versuchstag sinken in unseren Versuchen die Werte des ^{3}H-Indexes wieder ab. Die rückläufige Tendenz wird auch dann registriert, wenn weiterhin täglich 1 mg TP zugeführt wird. Dieser Befund steht gut in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Shepherd *et al.* (1965), die von einer Abnahme der Zellteilungen in den männlichen Adnexen der kastrierten Ratte unter wiederholten Gaben von Androstenolon berichteten. Die Applikation des Androgens — in unseren Untersuchungen TP — führt also in der nach Kastration rückgebildeten Samenblase zu einem *vorübergehenden Proliferationsschub* und danach bis zum 7. Versuchstag zu einer Abnahme des ^{3}H-Indexes, die möglicherweise mit zunehmender Differenzierung und Funktionsaufnahme des Epithels in Korrelation steht. Denkbar ist aber auch, daß der hormonelle Wachstumsreiz zu einem initialen Proliferationsschub führt, indem die Zellen zeitlich weitgehend synchron in die DNS-Verdopplungsphase eintreten, und daß es in den nachfolgenden Teilungscyclen wieder zu einer zunehmenden Desynchronisation kommt. Dadurch werden die Zellen der Wachstumsfraktion gleichmäßiger über die Generationszeit verteilt, was sich durch ein Absinken des ^{3}H-Indexes manifestiert.

Auffallend ist auch ein temporärer Wiederanstieg des ^{3}H-Indexes nach einmaliger Applikation von 1 mg bzw. 10 mg TP am 5. Versuchstag. Ob darin ein phasenförmiger Ablauf der Regenerationsvorgänge zum Ausdruck kommt, muß offen bleiben.

7 Tage nach Versuchsbeginn ist nach *einmaliger* Gabe von 1 mg TP der ^{3}H-Index wieder auf das Niveau der kastrierten Kontrolltiere abgesunken, der hormonelle Stimulus also nicht mehr proliferationssteigernd wirksam. Bei den Tieren, die einmalig 10 mg TP erhielten, ist der Wert ebenfalls stark reduziert, liegt aber noch deutlich über dem der kastrierten Kontrolltiere. Die Dauer der stimulierenden Wirkung ist also abhängig von der Größe des initialen hormonellen Stimulus und damit von der Menge der applizierten Dosis und deren endogener Verfügbarkeitszeit.

7 Tage nach Versuchsbeginn ist bei *täglicher* Applikation von 1 mg TP der ^{3}H-Index noch deutlich erhöht; er liegt mit 3,06% höher als bei den nicht-kastrierten Kontrolltieren (0,34%). Damit zeigt sich, daß die Samenblase auch noch 7 Tage

nach Setzen des ersten hormonellen Reizes mit einer hohen Proliferation auf weitere Hormongaben reagiert, obgleich dieser Reiz zunehmend mit einem geringeren ^{3}H-Index beantwortet wird. Cavazos und Melampy (1954) kamen bei der Verfolgung des Mitoseindexes in den Bläschendrüsen der kastrierten Ratte zu vergleichbaren Resultaten; unter täglich 500 µg TP stieg der Mitoseindex nach 60 Std auf 7,5% und lag nach 20 Tagen noch bei 0,1%.

Hinsichtlich des Einflußes von Sexualhormonen auf die Proliferation der hormonabhängigen Organe erhebt sich die Frage, wie sie in die Zellteilung eingreifen. Neuerdings scheint es belegt, daß Testosteron in hormonabhängigen Organen angereichert und in den Zellkern eingeschleust wird (Mangan *et al.*, 1968; Tuohimaa, 1970). Dabei wird es in den Zellen der Erfolgsorgane in 5 α-Dihydrotestosteron umgewandelt (Bruchovsky und Wilson, 1968), das eine 2—2,6-mal stärkere Wirkung als Testosteron auf das Samenepithel der Ratte ausübt (Vida, 1969). Fang *et al.* (1969, 1971) konnten nachweisen, daß im Cytoplasma und im Nucleus der Zellen des ventralen Prostatalappens der Ratte proteinartige Receptoren für 5-α-Dihydrotestosteron vorhanden sind (s. auch Mainwaring, 1969), was für die Theorie spricht, daß das Hormon über eine Genaktivierung wirksam wird. Die dadurch ausgelöste Transskription und nachfolgende Translation leiten schließlich die Zellteilungsvorgänge mit der DNS-Synthese ein. Wie Tuohimaa und Niemi (1968) bei ihren Untersuchungen der Samenblase kastrierter Mäuse wahrscheinlich machten, kommt es nach der Applikation von Testosteron zu einer extremen Verkürzung der G_1-Phase von ca. 900 Std bei den kastrierten Kontrolltieren auf 10 Std bei den hormonstimulierten Tieren. Gleichzeitig werden auch alle übrigen Teilphasen des Zellcyclus — besonders deutlich die S-Phase — verkürzt.

Um zu prüfen, wie sich die Länge der S-Phase im Samenblasenepithel intakter Ratten zu der von kastrierten, hormonstimulierten Tieren verhält, wurde die Silberkorndichte über den markierten Zellkernen in beiden Versuchsgruppen ermittelt. Für die letztere Gruppe verwendeten wir 4 kastrierte Tiere nach täglicher Applikation von 1 mg TP (2 nach 48 Std, 2 nach 168 Std Versuchsdauer). Der Vergleich der Silberkorndichten führte uns zu weitgehend identischen Werten. Dies bedeutet, daß im Samenblasenepithel intakter und kastrierter hormonstimulierter Tiere — gleiche Verwertungsraten des exogen zugeführten ^{3}H-Thymidins vorausgesetzt (Schmid *et al.*, 1973) — in der gleichen radioaktiven Versuchszeit gleiche Mengen an ^{3}H-Thymidin eingebaut werden. Durch den kastrationsbedingten Hormonentzug wird also die Dauer der S-Phase verlängert, durch die Hormonsubstitution wieder auf die gleiche Länge wie bei intakten Tieren verkürzt.

Morley und Wright (1972) untersuchten die Samenblasen der kastrierten Maus unter dem Einfluß von TP, indem sie den Prozentsatz markierter Mitosen nach einmaliger Applikation von ^{3}H-Thymidin verfolgten. Sie fanden nach täglicher Applikation von TP, 49 Std nach Beginn der Hormongaben, einen ^{3}H-Index von 19% und konnten zeigen, daß nahezu alle während der radioaktiven Verfügbarkeitszeit des ^{3}H-Thymidins markierten Zellen eine Mitose durchlaufen, daß aber nur ca. 20% der Tochterzellen 14,2 Std später — der Dauer der von den Autoren ermittelten G_1-Phase — eine erneute Zellteilung beginnen. Dies deutet darauf hin, daß ein relativ großer Teil der durch die erste Mitosewelle nach dem Regenerationsreiz gebildeten Tochterzellen aus der Wachstumsfraktion ausgeschleust

werden. Dabei errechneten die Autoren eine Growth-fraction von 0,62, d.h. daß sich 49 Std nach Versuchsbeginn während der maximalen Proliferationsantwort 62% der Epithelzellen in der Wachstumsfraktion befinden.

Hinsichtlich des histologischen Aussehens der Samenblasen kastrierter Ratten nach Gabe von TP fällt auf, daß nach 72 Std die Zellkerne wieder etwa die Größe und das Aussehen wie bei den intakten Tieren erreichen — ein bereits von Ritter (1969) erhobener Befund. Schon 48 Std nach der ersten Hormonapplikation findet sich beim Kollektiv der täglich mit TP behandelten Tiere im Lumen der Samenblasen eine geringe Sekretmenge. Dieses Sekret nimmt bis zum 7. Versuchstag nur wenig zu und erreicht bei weitem nicht die bei den intakten Tieren beobachtete Menge. Soweit an Hand von HE-Schnitten beurteilbar, dominieren in den durch Kastration zurückgebildeten Samenblasen nach Zufuhr von TP zunächst Proliferationsvorgänge, während die Funktionsaufnahme — gemessen an der sekretorischen Leistung des Epithels — offensichtlich erst zu einem späteren Zeitpunkt einsetzt. Dies könnte ein Ausdruck dafür sein, daß Proliferationsstoffwechsel und Funktionsstoffwechsel sekretorisch tätiger Zellen nicht parallel in einer Zelle ablaufen (s. Altmann, 1966). Dabei kann nicht entschieden werden, ob auch in unserem Versuchsmodell die Proliferation die Voraussetzung für die Funktionsaufnahme im Samenblasenepithel darstellt, wie es z. B. bei der Hämoglobinsynthese fetaler Leberzellen der Maus angenommen wird (Paul und Hunter, 1968, 1969; Lit. s. Duspiva, 1971).

Wir danken Fräulein E. Teubner für die Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen.

Literatur

Allen, J. M.: The influence of hormones on cell division. II. Time response of ear, seminal vesicle, coagulating gland and ventral prostate of castrated male mice to a single injection of testosterone propionate. Exp. Cell Res. **14**, 142—148 (1958)

Altmann, H. W.: Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen. Verh. dtsch. Ges. Path. **50**, 15—33 (1966)

Bruchovsky, N., Wilson, J. D.: The conversion of testosterone to 5-alpha-androstan-17 beta-ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro. J. biol. Chem. **243**, 2012—2021 (1968)

Burkhart, E. Z.: Study of early effects of androgenic substances in rat by aid of colchicine. J. exp. Zool. **89**, 135—165 (1942)

Cavazos, L. F., Melampy, R. M.: Cytological effects of testosterone propionate on epithelium of rat seminal vesicles. Endocrinology **54**, 640—648 (1954)

Christophers, E., Braun-Falco, O.: Epidermale Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschichtabriß. Arch. klin. exp. Derm. **231**, 85—96 (1967)

Duspiva, F.: Biochemie der Mitose. In: Handbuch allgemeine Pathologie (Hrsg. F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet), Bd. II, 2, I, S. 480—568. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971

Epifanova, O. I.: Effects of hormones on the cell cycle. In: The cell cycle and cancer, p. 145—226, ed. R. Baserga. New York: Marcel Dekker, Inc. 1971

Fang, S., Anderson, K. M., Liao, Sh.: Receptor proteins of androgens. On the role of specific proteins in selective retention of 17-beta-hydroxy-5-alpha-androstan-3-one by rat ventral prostate in vivo and in vitro. J. biol. Chem. **244**, 658—659 (1969)

Fang, S., Liao, Sh.: Androgen receptors. Steroid-and tissue-specific retention of a 17beta-hydroxy-5-alpha-androstan-3-one-protein complex by the cell nuclei of ventral prostate. J. biol. Chem. **246**, 16—24 (1971)

Grundmann, E.: Der mitotische Zellzyklus. In: Handbuch allgemeine Pathologie (Hrsg. F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet), Bd. II, 2, I, S. 282—479. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971

Grunt, J. A., Walker, J. E.: In vivo observations on the seminal vesicles of the castrated rats and the response to various steroids. Anat. Rec. **130**, 413 (1958)
Junkmann, K.: Über protrahiert wirksame Androgene. Arch. exp. Path. **215**, 85—92 (1952)
Mainwaring, W. I. P.: The binding of (1,2-^{3}H)-testosterone within the nuclei of the rat prostate. J. Endocr. **44**, 323—333 (1969)
Mangan, F. R., Neal, G. E., Williams, D. C.: Subcellular distribution of testosterone in rat prostate and its possible relationship to nuclear ribonucleic acid synthesis. Arch. Biochem. Biophys. **124**, 27—40 (1968)
Morley, A. R., Wright, N. A.: Androgen-induced cell proliferation and differentiation in the seminal vesicle and coagulating gland of the castrated mouse. J. Endocr. **54**, 465—471 (1972)
Paul, J., Hunter, J. A.: DNA-synthesis is essential for increased haemoglobin synthesis in response to erythropoietin. Nature (Lond.), **219**, 1362—1363 (1968)
Paul, J., Hunter, J. A.: Synthesis of macromolecules during induction of haemoglobin synthesis by erythropoietin. J. molec. Biol. **42**, 31—41 (1969)
Ritter, C.: Androgen-stimulated restoration in rat seminal vesicle and prostate epithelial cells. Endocrinology **84**, 844—854 (1969)
Sandler, R., Hall, P. F.: The influence of age upon the response of rat testis to ICSH in vitro. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **164**, 445—447 (1968)
Schmid, G. H., Hornstein, O. P., Arnold, V.: Das Wachstumsverhalten des Samenblasenepithels der erwachsenen weißen Ratte nach Kastration. Virchows Arch. Abt. B **8**, 361—364 (1971)
Schmid, G. H., Hornstein, O. P., Popp, E.: Autoradiographische Untersuchungen über die DNS-Synthese in der Wangenschleimhaut und im Zungenepithel verschieden alter Ratten. Arch. Derm. Forsch. **246**, 236—248 (1973)
Sheperd, H., Tsien, W. H., Mayer, P., Howie, N.: Metabolism of the accessory sex organs of the male rat: changes in nucleic acid composition and uptake of thymidine-^{3}H induced by castration and with androstenolone. Biochem. Pharmacol. **14**, 41—51 (1965)
Stöcker, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. dtsch. Ges. Path. **50**, 53—74 (1966)
Tuohimaa, P.: Localization and metabolism of exogenous ^{3}H-testosterone in the male genitalia of the rat. Fortschr. Androl. (Morph. Asp. Androl) **1**, 111—115 (1970)
Tuchimaa, P., Niemi, P.: The effect of testosterone on cell renewal and mitotic cycles in sex accessory glands of castrated mice. Acta endocr. (Kbh.) **58**, 695—703 (1968)
Vida, I. A.: Androgens and anabolic agents: chemistry and pharmacology. p. 5. New York: Academic Press 1969
Wicks, W. D., Villee, C. A.: Studies on the course of action of testosterone propionate on the rat seminal vesicle. Arch. Biochem. Biophys. **106**, 353—359 (1964)

Dr. G. H. Schmid
Dermatologische Universitätsklinik
D-8520 Erlangen
Hartmannstr. 14
Bundesrepublik Deutschland

IX. Lebenslauf

Am 22. August 1947 wurde ich als Sohn des technischen Kaufmanns Thomas Heyder und seiner Ehefrau Betty, geb. Zanner in Wirsberg, Lkr. Kulmbach, geboren.

Ich besuchte ab 1953 die Volksschulen in Bad Aibling und Wirsberg und trat 1958 in das Markgraf-Georg-Friedrich Gymnasium in Kulmbach ein, an dem ich im Juli 1967 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1968 begann ich das Medizinstudium an der Universität Hamburg und wechselte zum Wintersemester 1969/70 an die Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich das medizinische Staatsexamen am 2.8.1974 bestand.